

Abbauversuche am
Uscharidin und Calotropagenin
(Auszug)

Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen
zur Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Gustav Lettenbauer
aus München

VERLAG CHEMIE, WEINHEIM/BERGSTR. 1958

Als Dissertation genehmigt von der Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Universität Erlangen

16. Juli 1958

Tag der mündlichen Prüfung: ~~12. Juni 1958~~

Dekan: Universitätsprofessor Dr. R. Fleischmann

Berichterstatte: Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Berichterstatte: Universitätsprofessor Dr. O. Dann

Sonderdruck aus: Liebigs Ann. Chem. 623, 142—156 (1959)
" " " 625, 167—173 (1959)

SONDERDRUCK AUS
JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

Über afrikanische Pfeilgifte, VII
STRUKTUR UND VERKNÜPFUNG DES „ZUCKERS“
IM USCHARIDIN

VON GERHARD HESSE und GUSTAV LETTENBAUER

Herrn Prof. Dr. Hans Meerwein zum 80. Geburtstag gewidmet

Aus dem Institut für Organische Chemie an der Universität Erlangen



Liebigs Ann. Chem. 623, 142–156 (1959)

Über afrikanische Pfeilgifte, VII ¹⁾
STRUKTUR UND VERKNÜPFUNG DES „ZUCKERS“
IM USCHARIDIN

VON GERHARD HESSE und GUSTAV LETTENBAUER ²⁾

Herrn Prof. Dr. Hans Meerwein zum 80. Geburtstag gewidmet

Aus dem Institut für Organische Chemie an der Universität Erlangen

Eingegangen am 16. Januar 1959

Der glykosidische Anteil des Uscharidins wird *in situ* gespalten und dabei außer Calotropagenin und Kohlendioxyd ein ungesättigtes Ketol erhalten, das über den Bau und die Verknüpfungsstelle Aufschluß gibt. Außer der Ätherbindung an C-3 des Genins besteht noch eine Lactolbindung nach der Aldehydgruppe an C-19.

Uscharidin (I)^{*)} ist ein tautomerer Stoff. Als einziges Calotropis-Gift gibt es im Papierchromatogramm auf Formamid einen langgezogenen Fleck. Wenn man das obere und das untere Ende dieses Verteilungsbereichs für sich eluiert und wieder analysiert, so erhält man aus jedem Teil das gleiche Chromatogramm wie aus der Gesamtheit. Die Gleichgewichtslage hängt vom Lösungsmittel ab; im Octanol/Wasser-System verhält sich Uscharidin normal. – Auch für das Ultraviolettpektrum sind ganz verschiedene Kurven erhalten worden, die zwischen den abgebildeten Extremen³⁾, (Abb. 1) liegen. Bis heute haben wir es nicht in der Hand, ein bestimmtes Spektrum zu bekommen. Alle Messungen gleichen sich vollkommen in Lage und Höhe des vom ungesättigten Lactonring herrührenden Maximums (217–218 m μ , log ϵ 4.20). Dieser Bezirk wird von der Umlagerung also nicht berührt. Die Absorption ändert sich aber im Gebiet der „Schulter“ zwischen 250 und 350 m μ , im Bereich der Carbonylabsorption. Es ist also wahrscheinlich, daß die Zahl der freien Carbonylgruppen sich ändert, entweder durch Enolisation oder Lactolbildung. Im folgenden wird deshalb auch von „potentiellen Carbonylgruppen“ die Rede sein.

Vom Uscharidin ist bisher nur ein Monoxim beschrieben⁴⁾. Es bildet sich ungewöhnlich leicht und kann deshalb nicht von der Aldehydgruppe im Genin stammen,

^{*)} Allen Formulierungen ist noch die klassische Sterinformel zugrundegelegt. Unsere Erfahrungen bei der Selendehydrierung lassen aber ebensogut eine Struktur zu, bei der Ring C 5-gliedrig und Ring D 6-gliedrig ist, vgl. Zit. ⁷⁾.

¹⁾ VI. Mitteilung: G. HESSE und H. W. GAMPP, Chem. Ber. **85**, 933 (1952).

²⁾ Dissertation G. LETTENBAUER, Univ. Erlangen 1958.

³⁾ Diplomarbeit G. LETTENBAUER, Univ. Erlangen 1956.

⁴⁾ G. HESSE, F. REICHENEDER und H. EYSENACH, Liebigs Ann. Chem. **537**, 67 (1939).

die nur schwierig mit Hydroxylamin reagiert. Da man es auch aus Uscharin durch Verdrängung des heterocyclischen Teils mit Hilfe von Hydroxylamin bekommt, muß die Isonitrosogruppe an C-4', im „Zucker“ stehen⁵⁾. Durch Reduktion der gleichen Carbonylgruppe erhält man Calotropin (II)⁶⁾, das seinerseits noch ein Dioxim gibt⁷⁾. Die Schwerlöslichkeit des Uscharidin-oxims verhindert die Umsetzung der beiden anderen Carbonyle. Ihre Reaktions-trägheit zeigt sich auch bei der Reduktion mit Kaliumboranat, die unter den angewandten Bedingungen für Oxo-gruppen recht spezifisch ist. Von den drei potentiellen Carbonylgruppen des Uscharidins werden dabei nur zwei reduziert, und zwar mit sehr verschiedener Geschwindigkeit. Das gebildete Tetrahydro-uscharidin (III) konnte als Tetraacetat (IIIa) rein erhalten werden und hat noch eine Carbonylgruppe, die selbst durch einen großen Überschuß des Reduktionsmittels in langer Zeit nicht reduziert wird. Im UV-Spektrum tut sie sich durch ein Nebenmaximum bei 300 m μ (log ϵ 1.4) kund.

Die letzte Carbonylgruppe widersteht auch der katalytischen Hydrierung. Uscharidin verbraucht mit ADAMS-Katalysator in 6 Tagen 2.8 Mol Wasserstoff⁸⁾. 1 Mol wird von der olefinischen Doppelbindung im Butenolidring beansprucht, daher können nur knapp 2 Mole von Oxogruppen aufgenommen worden sein. Ein Grund für die Reaktionsträgheit der dritten Carbonylgruppe ist wahrscheinlich in der Bildung einer Wasserstoffbrücke mit einer nahestehenden Hydroxylgruppe zu sehen. Die Verhältnisse werden ähnlich liegen wie bei Allotoloidinon⁹⁾ und Taxifolin¹⁰⁾. In diesen beiden Fällen wurde gezeigt, daß die Hemmung mit der Verätherung der störenden Hydroxylgruppen verschwindet.

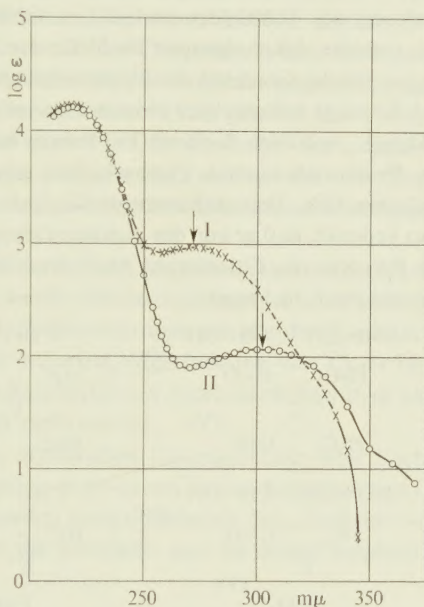


Abbildung 1. Uscharidin in Äthanol

I: $c = 0.81 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter

II: $c = 1.08 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter

5) G. HESSE und K. MIX, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

6) G. HESSE, H. FASOLD und W. GEIGER, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

7) W. GEIGER, G. HESSE, G. LETTENBAUER und H. SCHILDKNECHT, Naturwissenschaften **44**, 328 (1957).

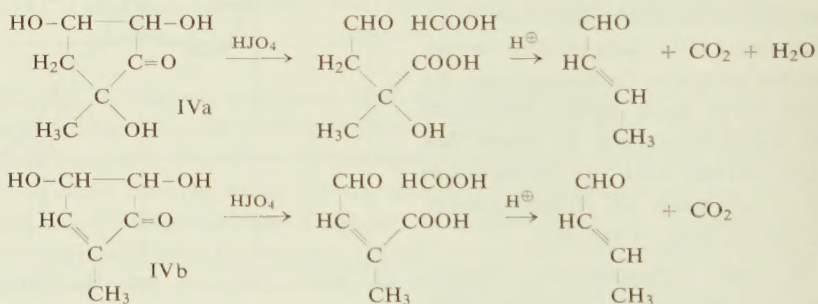
8) G. HESSE, L. J. HEUSER, E. HÜTZ und F. REICHENEDER, Liebigs Ann. Chem. **566**, 130 (1950).

9) K. ZEILE und A. HEUSNER, Chem. Ber. **90**, 1869 (1957).

10) K. FREUDENBERG und K. WEINGES, Angew. Chem. **70**, 51 (1958).

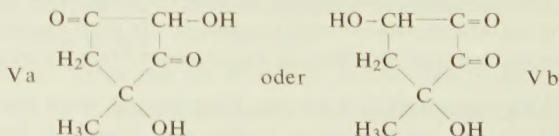
Tetrahydro-uscharidin (III) wird durch verd. Säure leichter hydrolysiert als Uscharidin. Die gleiche Erscheinung hat man an Herzgiftglykosiden beobachtet, in denen der Zucker über die Aldehydgruppe an C-19 eine zweite Bindung an das Genin eingeht, zum Beispiel beim Dihydro-antiarin¹¹⁾. Durch die Reduktion der Aldehydgruppe wird diese zweite Verknüpfung hinfällig. Tatsächlich enthalten alle bei der Spaltung des Tetrahydro-uscharidins isolierten Anhydrogenine, beispielsweise XV, eine primäre Alkoholgruppe an Stelle der Aldehydgruppe. Mehr als eine Carbonylgruppe hat der Genanteil des Uscharidins aber nicht; die reduzierte, zweite Oxogruppe und die nicht reduzierbare müssen also im abgespaltenen „Zucker“ enthalten sein.

Dieser „hydrierte Zucker“ (IV) konnte nur als farbloser, zäher Sirup erhalten werden. Er hat reduzierende Eigenschaften, was auf eine α -Hydroxycarbonyl-Gruppierung schließen läßt. Perjodsäureoxydation gab Crotonaldehyd und Ameisensäure. Wenn man bedenkt, daß er aus der gleichen Gruppierung hervorgegangen sein muß, die bei der Pyrolyse des Calotropins Methylreduktinsäure gibt¹²⁾, dann kommen folgende Umsetzungen in Frage:



Das UV-Spektrum von IV hat zwischen 220 und 250 m μ keine selektive Absorption. Dies schließt ein α,β -ungesättigtes Keton (IVb) aus. Der weiteren Diskussion wird deshalb nur noch die Struktur IVa zugrundegelegt.

Von den beiden sekundären Alkoholgruppen hat im Zuckeranteil des Uscharidins (Va, b) eine als Carbonylgruppe vorgelegen:



Vorsichtige alkalische Hydrolyse des Uscharidins (I) gibt eine klare Entscheidung zugunsten der β -Diketonstruktur Va. Bereits in einer früheren Arbeit⁴⁾ war es gelungen,

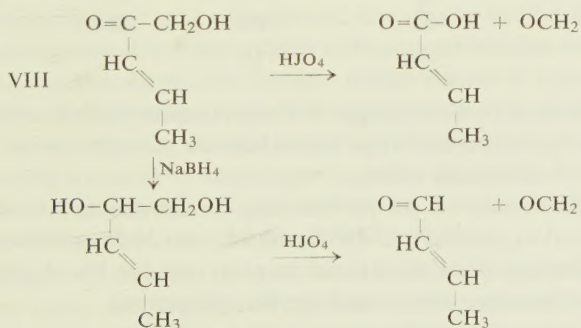
¹¹⁾ F. DOLDER, CH. TAMM und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **38**, 1364 (1955), und zwar S. 1393.

¹²⁾ G. HESSE und F. REICHENEDER, *Liebigs Ann. Chem.* **526**, 252 (1936).

durch Kochen mit Borax-Lösung die glykosidische Komponente aus dem Uscharidin abzuspalten und zum Isocalotropagenin^{*)} zu kommen, das bei der gleichen Behandlung auch aus Calotropagenin^{*)} entsteht. Unter wesentlich milderen Bedingungen läßt sich die Isomerisierung des Butenolidrings vermeiden. Man erhält eine Säure, die noch alle C-Atome des Ausgangsstoffes enthält und im folgenden „Boraxsäure“ (VI) genannt wird. Mit sehr verdünnter Mineralsäure oder durch Pyrolyse zerfällt sie in Calotropagenin, Kohlendioxyd und ein Ketol mit fünf C-Atomen (VIII). Auch durch 2*n* Lauge wird der „Zuckerring“ geöffnet, gleichzeitig aber auch der ungesättigte Lactonring des Genins isomerisiert. Diese „Isoboraxsäure“ (VII) gibt bei der Pyrolyse das gleiche Ketol. Daraus geht hervor, daß es sich bei der Hydrolyse des „Zuckers“ nicht um eine spezifische Wirkung von Borat-Ionen handelt, sondern um eine Alkaliwirkung. Eine so leicht verlaufende alkalische Spaltung eines Diketons zu einer Monocarbonsäure hat man nur bei β -Diketonen zu erwarten.

Die „Boraxsäure“ läßt sich mit Diazomethan in einen Monomethylester überführen, der ein Monoxim gibt. Der gleiche Ester wurde überraschenderweise auch erhalten, als das Uscharidin zur Prüfung auf eine 11.12-Ketol-Gruppe mit Kupfer(II)-acetat in wäßrigem Methanol erwärmt wurde. Die erwartete Ausscheidung von Cu₂O blieb aus. Es kann sich nur um eine durch das Kupfer(II)-Ion katalysierte Solvolyse handeln, da bei *p*_H 6 eine Säurespaltung noch nicht eintritt.

Durch Mineralsäuren in wasserhaltigen, organischen Lösungsmitteln wird Uscharidin (I) schon bei Raumtemperatur langsam zu einer sauren Verbindung abgebaut¹³⁾, aus der das gleiche Ketol VIII erhalten werden kann. Bezüglich des „Zuckers“ verläuft die saure Hydrolyse also ebenso wie die alkalische und die durch Kupfer(II)-Ionen katalysierte.



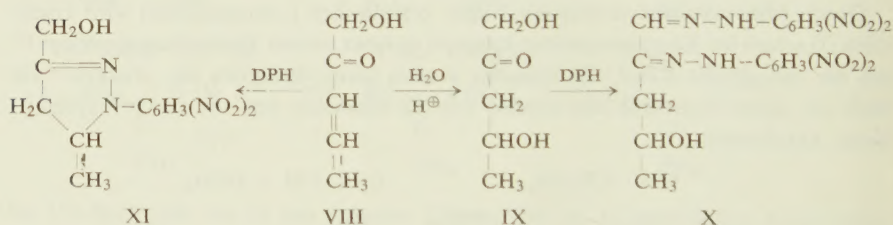
Alle drei Spaltungen, so verschieden ihre Bedingungen auch sind, trennen die gleiche Kohlenstoffbindung im glykosidischen Teil des Uscharidins, ohne das Molekül

^{*)} In der V. Mitteilung⁸⁾ sind diese Stoffe als Iso-anhydrocalotropagenin und Anhydrocalotropagenin bezeichnet. Die darin enthaltene Auffassung, es handle sich um Anhydrogenine, läßt sich aber nicht aufrechterhalten.

¹³⁾ G. HESSE, H. KRAMB und G. LETTENBAUER, erscheint demnächst.

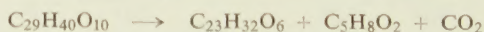
in Teile zu zerlegen. Dies ist eine wichtige Bestätigung für die *Ringstruktur* des „Zuckers“. Die bisherige Begründung hatte sich auf die bei der Pyrolyse des Calotropins (= Dihydro-uscharidin) erhaltene Methylreduktinsäure gestützt. Unter solchen Bedingungen wäre eine sekundäre Bildung des Fünfrings aus einem normalen, offenen Zucker möglich und ist seinerzeit auch bedacht worden ¹²⁾. Heute kann man diese Möglichkeit ausschließen.

Das auf verschiedenen Wegen erhaltene *Ketol* $C_5H_8O_2$ (VIII) enthält noch fünf von den sechs C-Atomen des „Zuckers“. Die Kenntnis seiner Struktur ist deshalb für die weitere Aufklärung entscheidend wichtig; sie ergibt sich aus folgenden Umsetzungen: 1) Perjodsäure-Abbau gibt Formaldehyd und Crotonsäure. 2) Nach vorheriger Reduktion mit Natriumborant gibt die gleiche Oxydation Formaldehyd und Crotonaldehyd. 3) 2,4-Dinitro-phenylhydrazin gibt ein Pyrazolin-Derivat. Offenbar liegen in dem zunächst gebildeten Hydrazon die beiden Doppelbindungen in der zum Ringschluß günstigen Konfiguration vor, und die Bildung des Heterorings erfolgt daher rascher als die zur Entstehung eines Osazons nötige AMADORI-Umlagerung. 4) Läßt man das Ketol aber einige Tage in saurer, wäßriger Lösung stehen und behandelt dann erst mit Dinitrophenylhydrazin, so erhält man fast ausschließlich das nitrierte Osazon X seines Wasseranlagerungsprodukts IX.



Die Anwesenheit einer Hydroxylgruppe in diesem Osazon wurde von H. FASOLD ¹⁴⁾ auf papierchromatographischem Wege wahrscheinlich gemacht, da er die Bildung eines Acetylderivats nachweisen konnte.

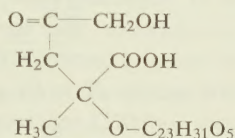
Bei der Hydrolyse sowohl wie bei der Brenzung der „Boraxsäuren“ müssen neben- einander eine Decarboxylierung und die Ausbildung der Kohlenstoffdoppelbindung erfolgen. Die Reihenfolge dieser Reaktionen ist nicht bekannt. Die Pyrolyse in Nitrobenzol als Wärmeüberträger erfolgt nach der Bruttogleichung



ohne Bildung von Wasser. Die Kohlenstoffdoppelbindung des Ketols muß also durch die Ablösung des Genins entstanden sein, und es ist daher sehr wahrscheinlich, daß eines der beiden doppelt gebundenen Kohlenstoffatome vorher der *Ort der Verknüpfung*

¹⁴⁾ H. FASOLD, Diplomarbeit, Univ. Erlangen 1957.

fung war. Jedenfalls kann sie nicht durch eines der im Ketol noch vorhandenen Sauerstoffatome vermittelt worden sein, denn im Genin entsteht keine Doppelbindung. Zwei Gründe sprechen dafür, sie an C-1' zu suchen. Erstens neigen β -Ketoäther ebenso wie die entsprechenden Alkohole besonders zu solchen Abspaltungsreaktionen, und zweitens sind sie an einem tertiären C-Atom begünstigt. Der „Boraxsäure“ (VI) ist dann die nebenstehende Teilstruktur zuzuschreiben.



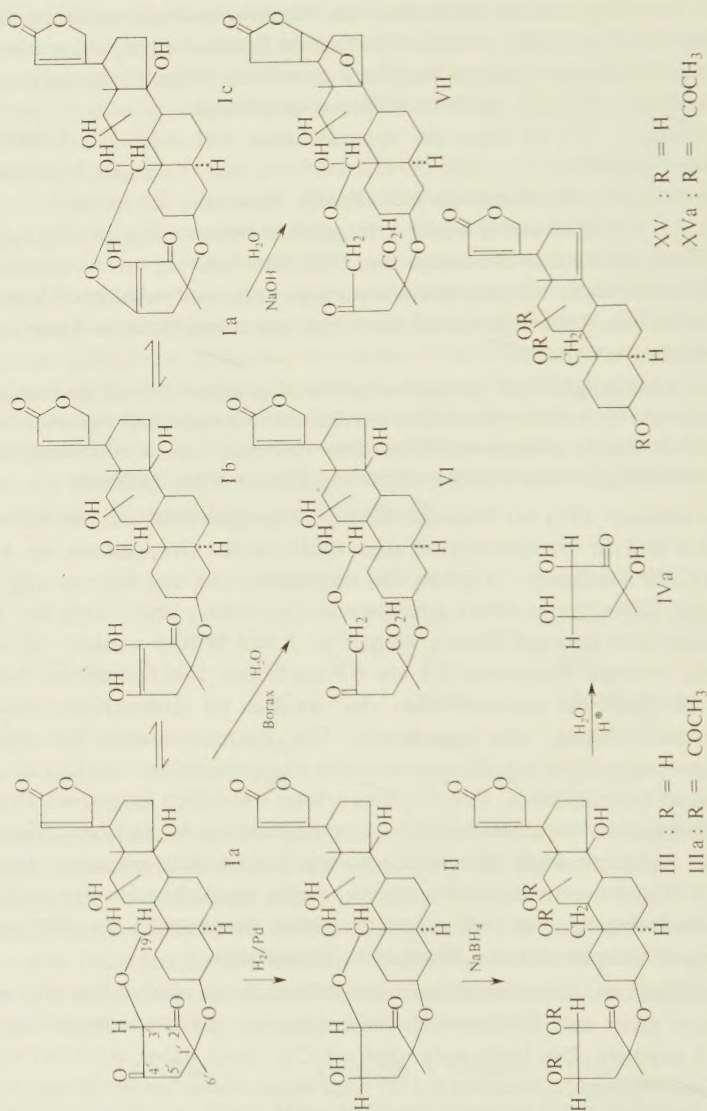
Sie erklärt auch weit besser als jede andere Verknüpfungsstelle die verhältnismäßig leicht erfolgende hydrolytische Spaltung des Tetrahydro-uscharidins (III). Hier handelt es sich sicher nicht um eine Eliminierungsreaktion und es fehlt auch die Unterstützung durch eine β -ständige Ketogruppe. Nur von einem tertiären Äther kann man dieses Verhalten erwarten.

Unter den Bedingungen einer „acetylierenden Ätherspaltung“¹⁵⁾ wird das Tetracetat IIIa durch Zinkchlorid in Acetanhydrid bereits bei Raumtemperatur an der gleichen Stelle zerlegt; daneben erfolgt die Abspaltung der tertiären Hydroxylgruppe an C-14, und man erhält das Acetat des Anhydro-dihydrocalotropagenins (XVa) in guter Ausbeute.

Die „Boraxsäure“ (VI) hat Besonderheiten, die geeignet sind, weitere Hinweise auf ihre Struktur und die Wechselwirkung ihrer funktionellen Gruppen mit der Aldehydgruppe an C-19 des Genins zu geben. Bei der Einwirkung von Säurespuren geht sie bereits in der Kälte in eine höher schmelzende Verbindung über. Nach der Analyse, die allerdings nicht sehr gut stimmt, enthält sie 1 Mol Wasser weniger. Sie ist keine Säure mehr, sondern wahrscheinlich ein 6-Ring-lacton. Ein Lacton mit 5-Ring ist durch das IR-Spektrum auszuschließen, das übrigens im Hydroxylbereich dem des „Boraxsäuremethylesters“ sehr nahe kommt. Die „hochschmelzende Boraxsäure“ ist papierchromatographisch von der anderen nicht zu unterscheiden und läßt sich ebenso wie diese sauer hydrolysieren; ihre Pyrolyse erfolgt wesentlich langsamer. Beide Formen der „Boraxsäure“ werden durch Natriumboranat zu der gleichen „Tetrahydroboraxsäure“ reduziert. Auch sie wird durch verd. Säuren leicht gespalten. Man erhält α - und β -19-Dihydro-anhydrocalotropagenin. Außer der Aldehydgruppe im Genin ist also noch die Ketogruppe an C-4' reduziert worden. Bruchstücke des „Zuckers“ wurden bei diesem Versuch mit nur 15 mg nicht identifiziert.

Sehr auffallend ist, daß „Boraxsäure“ durch Perjodsäure nicht angegriffen wird. Sie reagiert auch nicht mit Triphenyltetrazoliumchlorid und wird durch Kupfer(II)-Ionen nicht oxydiert. Die Hydroxylgruppe an C-3' kann daher nicht frei sein. Die gegebene Gesamtformel (Übersicht S. 148) trägt diesen Tatsachen Rechnung, indem sie eine Lactolisierung mit der C-19-Aldehydgruppe des Genins annimmt. In Übereinstimmung hiermit läßt das UV-Spektrum der Säure und ihres Methylesters nur eine

¹⁵⁾ vgl. G. HESSE in Houben-Weyl-Müller, *Methoden der organischen Chemie*, 4. Aufl., Bd. 4/2, S. 115, Verlag G. Thieme, Stuttgart 1955.



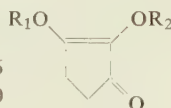
Carbonylgruppe (310 $m\mu$, $\log \epsilon$ 1.5) erkennen. Die andere ist aber als potentielle Oxogruppe noch vorhanden. Das Oxim des „Boraxsäuremethylesters“ wird von einer kleinen Menge eines Dioxims begleitet.

Mit der vorläufigen Formel für Calotropagenin lassen sich alle diese Ergebnisse zu einem widerspruchsfreien *Strukturbild des Uscharidins* (I) zusammenfügen. Ia ist die β -Diketonform (Nebenmaximum bei 305 $m\mu$, $\log \epsilon$ 1.9) mit zwei isolierten Carbonylgruppen. Der Reduktonform Ib, die noch nicht in reinem Zustand bekannt ist, kommt ein wesentlich höheres Nebenmaximum bei 272 $m\mu$ zu. Es ist die gleiche Wellenlänge, bei der auch Reduktinsäure¹⁶⁾ und Methylreduktinsäure (270 $m\mu$, $\log \epsilon$ 4.13)¹⁷⁾ absorbieren. Außer der Form mit freien Endiolgruppen (Ib) und ihrem Redukton-Tautomeren sind noch zwei andere mit diesem Spektrum verträglich, bei denen die jeweils außenständige Hydroxylgruppe lactolisiert ist. Auszuschließen sind aber die am mittleren Sauerstoffatom der Reduktongruppierung (an C-3') verätherten Formen. Nach Versuchen von K. MIX¹⁸⁾ führt Ätherbildung an dieser Stelle bei der Reduktinsäure zu einer hypsochromen Verschiebung des Maximums.

XII Reduktinsäure: $R_1 = R_2 = H$; 268 $m\mu$, $\log \epsilon$ 4.14

XIII Reduktinsäuremethylester: $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$; 270 $m\mu$, $\log \epsilon$ 4.16

XIV Reduktinsäuremethyläther: $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$; 257 $m\mu$, $\log \epsilon$ 4.20



Bei der Methylreduktinsäure ist das gleiche zu erwarten, da auch die Absorptionen der freien Säuren und der Methylester übereinstimmen.

Nach der Höhe der Extinktion bei 272 $m\mu$ kann man abschätzen, daß wir im höchsten Fall etwa 10 % der Reduktonform des Uscharidins in einer Lösung gehabt haben. Von ihr, und zwar wahrscheinlich von Ic, dürfte sich der mit Diazomethan gebildete Methyläther⁴⁾ ableiten. Kristallisiertes Uscharidin dürfte reines β -Diketon Ia sein.

Wir danken ganz besonders Herrn Dr. ERNST BOEHRINGER in Ingelheim für seine Bemühungen um neues Ausgangsmaterial, womit er diese seit fast 10 Jahren stillliegenden Arbeiten wieder möglich gemacht hat. Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT (ROCHE-FONDS) und dem FONDS DER CHEMIE haben wir für die Bereitstellung von Apparaten und Mitteln zu danken.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Alle Schmelzpunkte wurden mit dem Heizmikroskop der Firma H. BOCK, Frankfurt/M. bestimmt und sind nicht korrigiert. – Die UV-Spektren wurden mit dem ZEISS-Universal-Spektralphotometer M 4 Q II aufgenommen. Wenn nicht anders angegeben, wurde darauf geachtet, die Lösungen sofort nach der Herstellung durchzumessen. Wenn kein Lösungsmit-

¹⁶⁾ G. HESSE und G. KREHBIEL, Liebigs Ann. Chem. **593**, 42 (1955).

¹⁷⁾ G. HESSE, F. EXNER und H. HERTEL, Liebigs Ann. Chem. **609**, 57 (1957).

¹⁸⁾ Dissertation K. MIX, Univ. Erlangen 1958.

tel genannt ist, wurde reiner Äthylalkohol benutzt. — Die IR-Spektren sind mit dem Doppelstrahl-Spektrometer von LEITZ in Kaliumbromid aufgenommen (Natriumchlorid-Prisma).

Für die Säulenchromatographie wurden Aluminiumoxyde von M. WOELM, Eschwege, verwendet. Alle Lösungsmittel wurden vorher gereinigt. — Zur Papierchromatographie wurden die Papiere 2043a und 2043b mgl. von SCHLEICHER & SCHÜLL benutzt. — *Systeme mit Formamid* (Herzgifte und Dinitrophenylhydrazone): Zum Imprägnieren wird der schon vorher mit Startlinie und -punkten markierte Streifen durch eine 30-proz. Lösung von Formamid (MERCK) in Aceton gezogen, ohne Abtropfen zwischen mehrere Lagen Filtrierpapier gebracht und mit einer Gummiwalze abgepreßt. Nach kurzem Trocknen an der Luft können die Substanzen aufgebracht werden. Dies geschieht nach Möglichkeit in CHCl_3 - oder CH_2Cl_2 -Lösung; die Flecken sollen höchstens 1 cm Durchmesser haben. Sehr verdünnte Lösungen müssen mehrfach an der gleichen Stelle aufgetragen werden. Wenn möglich, wurde die Substanz eingewogen (100–200 γ). Die bewegliche Phase (Benzol CHCl_3 , CHCl_3 , CH_2Cl_2 u. a.) wurde immer mit Formamid gesättigt. *Wasser-Butanol-Toluol* (starker polare Stoffe, die auf Formamid zu langsam laufen): Butanol-Toluol-Gemische werden mit der gleichen Menge dest. Wasser durchgeschüttelt. Die wäßr. Phase wird zum Imprägnieren des Papiers (s. o.) verwendet, die organische als Laufflüssigkeit. — *Octanol-Wasser* (stark polare Stoffe): Das Papier wird mit einer 30-proz. Lösung von Octanol in Aceton imprägniert und gleich abgepreßt.

Zum Sichtbarmachen der Butenolide wurde immer die KEDDE-Reaktion in folgender Abänderung verwendet: Kurz vor Gebrauch vermischt man gleiche Teile einer 2-proz. Lösung von 3,5-Dinitro-benzoesäure in Methanol und 1 n wäßr. Natronlauge und sprüht auf. Die Färbung erreicht ihren Höhepunkt nach 3–5 Min. und verblaßt später wieder. Man muß sofort anzeichnen.

Uscharidin (I) wurde aus Uscharin erhalten. Die früher¹⁹⁾ gefundenen Schmelzpunkte der Lösungsmittelverbindungen mit Chloroform (195–196°), Äthanol (204–206°) und Wasser (227°) wurden bestätigt. Das Hydrat läßt sich ohne Austausch des Lösungsmittels aus heißem Äthanol umkristallisieren; erst nach dem Abdestillieren einer größeren Menge Alkohol, der das Wasser mitnimmt, erhält man die Alkoholverbindung. Alle Versuche, durch Destillation mit unpolaren Lösungsmitteln das Wasser zu entfernen, hatten eine teilweise Zersetzung oder Komponentenverschiebung im Uscharidin zur Folge, wie das Papierchromatogramm beweist.

Xylol-Präparat: Zers.-P. 303–306°.

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_9$ (530.6) Ber. C 65.65 H 7.21 Gef. C 65.91 H 7.02

Hydrat (bei 100°/0.1 Torr getrocknet):

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (548.6) Ber. C 63.49 H 7.35 Gef. C 63.23 63.31 H 7.09 7.15

Spezif. Drehung: 37.60 mg/l (Hydrat) in 5.00 ccm Äthanol, $[\alpha]_D^{20} = 34.6 \pm 1.0^\circ$. Papierchromatographie mit Formamid-Benzol-Chloroform 1:1 (absteigend) oder Octanol-Wasser (aufsteigend).

Oxim: 160 mg/l (Hydrat) wurden in 15 ccm absol. Methanol gelöst und mit 40 mg Hydroxylamin-hydrochlorid und 80 mg Natriumacetat 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Das ausgeschiedene Oxim (134 mg) wurde nach dem Erkalten abgesaugt (aus der Mutterlauge weitere 27 mg). Aus wasserhaltigem Dioxan dünne Blättchen, Schmp. 259°. Bei 100°/0.1 Torr getrocknet.

$\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{NO}_9 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (563.6) Ber. C 61.86 H 7.33 N 2.48 Gef. C 62.19 H 7.15 N 2.54

¹⁹⁾ Dissertation A. KRAMB, Univ. Freiburg/Br. 1952.

Tetrahydro-uscharidin (III). 3,2 g *Uscharidin*·CHCl₃ wurden in 120 ccm 80-proz. Dioxan gelöst und innerhalb 30 Min. unter Schütteln mit einer Lösung von 320 mg *Natriumborhydrid* in 25 ccm 80-proz. Dioxan vermischt. Dann wurde 2 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Beim Ansäuern mit 2*n* Schwefelsäure entwickelte sich lebhaft Wasserstoff, es war also ein Überschuß des Reduktionsmittels vorhanden. Nach Zugabe von 50 ccm Wasser wurde i. Vak. auf 50 ccm eingeeengt und dieser Vorgang noch einmal wiederholt. Die Lösung wurde dann mit CH₂Cl₂-Methanol (4:1) ausgeschüttelt, der Auszug mit gesättigter Na₂SO₄-Lösung (20 ccm) gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Beim Eindampfen blieben 2,55 g (97 % d.Th.) schaumiger Rückstand, der nicht zu kristallisieren war. Papierchromatographisch (Octanol-Wasser) wurden zwei Stoffe festgestellt, die auf das KEDDE-Reagenz ansprachen; der langsamer laufende war schätzungsweise 5–10 %, des anderen. Genau das gleiche Chromatogramm wurde erhalten, wenn *Calotropin* (II) in die Reaktion eingesetzt wurde.

Acetylierung: 500 mg des amorphen Reaktionsprodukts III in 7,5 ccm Pyridin wurden mit 5 ccm *Acetanhydrid* versetzt. Nach 2tägigem Stehen bei Raumtemperatur wurde i. Vak. zur Trockene gedampft. Die Lösung des Rückstands in 50 ccm CH₂Cl₂ wurde mit 2*n* Schwefelsäure, Soda-Lösung und Wasser gewaschen und wieder getrocknet. Beim Eindampfen hinterließ ein teilweise krist. Material, das aus Benzol an 15 g neutralem Aluminiumoxyd, Akt. I, adsorbiert und mit Benzol-CHCl₃ = 3:2 durchgewaschen wurde. Aus dem eingeeengten Filtrat kristallisierte α -*Tetrahydro-uscharidin-tetracetat* (IIIa) in derben Prismen aus, Schmp. 235–238°, 229 mg (45 % d.Th.). Aus der Säule konnten mit reinem CHCl₃ noch 40 mg Substanz herausgeholt werden, die bei der Nachacetylierung weiteres α -Acetat gab. Zur Analyse wurde 5 Stdn. bei 50°/0,1 Torr getrocknet.

C ₃₇ H ₅₀ O ₁₃ (702,7)	Ber. C 63.23	H 7.17	COCH ₃ 24.48
	Gef. 62.80 62.84	7.45 7.27	24.04

Spezif. Drehung: 8,80 mg IIIa in 1,177 ccm Äthanol-CHCl₃ (4:1), $[\alpha]_D^{25} = -46.7 \pm 1.6^\circ$.

Das α -Acetat ist gegen CrO₃ in Eisessig beständig. Es enthält also keine nicht acetylierte primäre oder sekundäre Hydroxylgruppe.

In der Mutterlauge ließ sich papierchromatographisch an Formamid/Benzol-Cyclohexan = 2:1 noch ein zweites Acetat in geringer Menge nachweisen, das wir vorläufig als β -Acetat bezeichnen. Es konnte nicht kristallisiert erhalten werden.

Acetylierende Ätherspaltung: 25 mg α -Acetat (IIIa) wurden in 4 ccm *Acetanhydrid* gelöst und 10 mg wasserfreies *Zinkchlorid* zugegeben. Der Ansatz blieb 4 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Dann wurde das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen und der Rückstand mit 5 ccm CH₂Cl₂ und 2 ccm 2*n* Schwefelsäure versetzt und gut verrührt. Die organische Schicht wurde dann mit wenig Soda-Lösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Papierchromatographische Untersuchung mit Formamid/Benzol-Cyclohexan = 1:1 ergab neben einer Spur Ausgangsmaterial als Hauptprodukt *Anhydro-dihydrocalotropagenin-triacetat* (XVa).

Hydrolyse von α -Tetrahydro-uscharidin (III): 2,6 g Rohprodukt aus einer Reduktion von Uscharidin mit Natriumboranat wurden in einem Gemisch aus 50 ccm Methanol und 50 ccm 1*n* Schwefelsäure gelöst und 70 Min. auf dem Wasserbad unter Rückfluß gekocht. Nach Abdestillieren des Methanols i. Vak. wurden die gebildeten Anhydrogenine mit CH₂Cl₂-Methanol (10:1) extrahiert, bis die wäßrige Phase keine KEDDE-Reaktion mehr gab. Der Auszug

hinterließ 1.9 g amorphe Substanz A. · Die wäßrige Phase wurde mit einem Überschuß von Bariumcarbonat neutralisiert, filtriert und verdampft. Der zähe Sirup wurde in 90-proz. Äthanol aufgenommen. Die von ungelösten Flocken abfiltrierte Lösung hinterließ 729 mg einer zähen, fast glasigen Masse, die im Papierchromatogramm an Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:3) einen einzigen mit Triphenyltetrazoliumchlorid-Lauge erkennbaren Fleck (R_f 0.66) gab. Es ist der hydrierte „Zucker“ IVa. Ammoniakalische Silbernitrat-Lösung und FEHLINGSche Lösung werden in der Wärme reduziert.

α -Anhydro-dihydrocalotropagenin (XV). — 1.2 g der amorphen Substanz A (s.o.) wurden aus CH_2Cl_2 an einer Säule aus 40 g saurem Aluminiumoxyd, Akt. IV, adsorbiert und mit CH_2Cl_2 -Methanol-Gemischen eluiert. Bei einem Methanolgehalt unter 1% wurden verschiedene Begleitsubstanzen ausgewaschen. Wenn der Methanolzusatz 1% erreicht hat, erscheint papierchromatographisch reines XV im Filtrat. Farblose, klare Kristalle aus Äthanol (714 mg), die beim Erhitzen (ca. 110°) oder Trocknen i. Vak. trüb werden. Schmp. 235–240°. Bei 50°/0.1 Torr getrocknet.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$ (388.5) Ber. C 71.10 H 8.30 Gef. C 71.44 H 8.59

Spezif. Drehung: 7.65 mg in 1.177 ccm Äthanol, $[\alpha]_D^{20} = -19.2 \pm 2^\circ$.

Bei der katalytischen Hydrierung mit ADAMS-Katalysator in Eisessig nimmt XV (171 mg) 19.1 ccm H_2 (0°/760 Torr) auf. Ber. für 2 Doppelbindungen 19.7 ccm H_2 .

α -Anhydro-dihydrocalotropagenin-triacetat (XVa). — 121 mg XV wurden in einem Gemisch aus 3 ccm Pyridin und 2 ccm Acetanhydrid gelöst und 2 Tage bei Raumtemperatur gehalten. Nach Abziehen der Lösungsmittel i. Vak. wurde in CH_2Cl_2 aufgenommen und nacheinander mit je 5 ccm 2*n* Schwefelsäure, Wasser, 2*n* Soda-Lösung und Wasser gewaschen. Die getrocknete Lösung hinterließ 166 mg (97% d. Th.) rohes Triacetat. 2mal aus Äthanol, farblose Nadeln, Schmp. 237–239°. Bei 50°/0.1 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_8$ (514.6) Ber. C 67.68 H 7.44 Gef. C 67.72 H 7.25

Spezif. Drehung: 11.12 mg XVa in 1.177 ccm Methanol- CHCl_3 (4:1), $[\alpha]_D^{20} = -61.1 \pm 1.5^\circ$.

Abbau des hydrierten „Zuckers“ IVa: 13.5 g $\text{Na}_3\text{H}_2\text{JO}_6$ wurden in 57.5 ccm 2*n* Schwefelsäure gelöst und mit dest. Wasser auf 1 Liter aufgefüllt. 1.00 ccm dieser Stammlösung entsprach 7.16 ccm n_{20} Thiosulfat. — 300 mg IVa wurden in 5 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst und mit 200 ccm der Perjodsäure-Lösung versetzt. Nach 6 Stdn. wurde mit aldehydfreiem Äther extrahiert (1 Tag) und der Auszug eingedampft, wobei die Vorlage mit Kohlensäureeis gekühlt wurde; im Destillat fanden sich keine nennenswerten Mengen von Carbonylverbindungen. Der Rückstand reagierte stark sauer. Ein Teil davon wurde zum Nachweis der Ameisensäure destilliert und mit Silbernitrat gefällt. Gelblicher Niederschlag, der sich beim Erwärmen unter der Mutterlauge schwarz färbte. Der Destillationsrückstand und der nicht destillierte Rest wurden zusammen mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in der Wärme gefällt; der rote Niederschlag wurde abgesaugt. Durch Chromatographie aus Äther an saurem Aluminiumoxyd, Akt. I, wurden sehr geringe Mengen von Bis-dinitrophenylhydrazonen (Blaufärbung mit Alkali) entfernt. Aus den ersten Anteilen des Durchlaufs kristallisierte reines, intensiv rotes Crotonaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon, Schmp. 189–192°. Es wurde papierchromatographisch und durch Mischschmelzpunkt mit authentischem Material identifiziert.

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4$ (250.2) Ber. C 48.02 H 4.03 N 22.39 Gef. C 48.44 H 4.26 N 22.39

„Boraxsäure“ (VI). — 2.7 g Uscharidin- CHCl_3 wurden mit 6 g Borax (Hydrat) und 80 ccm Wasser 90 Min. auf dem Wasserbad erwärmt, dann auf 0° gekühlt und mit konz. Salzsäure

stark angesäuert. Ein Teil der „Boraxsäure“ fällt dabei aus, eine weitere Menge nach dem Sättigen mit Natriumsulfat (zusammen 2.49 g). Aus Äthanol- CH_2Cl_2 1.45 g (64.5 % d.Th.) farblose Nadeln, Schmp. 167–169°. Bei 30°/16 Torr 3 Stdn. getrocknet:

$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ (566.6) Ber. C 61.46 H 7.46 Gef. C 60.97 H 7.52

Bei 100°/0.05 Torr 3 Stdn. getrocknet:

$\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$ (548.6) Ber. C 63.48 H 7.35 Gef. C 62.90 H 7.59

Spezif. Drehung: 8.95 mg VI in 1.177 ccm Äthanol- CHCl_3 (4:1), $[\alpha]_D^{25} = 32.2 \pm 2.9$.

Die „Boraxsäure“ ist sehr empfindlich gegen höhere Temperatur; sie geht dabei in die „höher schmelzende Boraxsäure“ über. Papierchromatographie in Octanol-Wasser oder Butanol-Toluol-Wasser, Entwicklung mit KEDDES Reagenz.

Methylester: 500 mg VI wurden in einem Gemisch aus 20 ccm Äthanol und 20 ccm CH_2Cl_2 gelöst und solange ätherische *Diazomethan*-Lösung zugegeben, bis die Gelbfärbung 5 Min. bestehen blieb. Der Rückstand der eingedampften Lösung wurde in wenig Isopropylalkohol- CH_2Cl_2 gelöst, filtriert und das Methylenchlorid abgedampft. Dünne Blättchen (405 mg, 81 % d.Th.), Schmp. 220°. Bei 50°/0.05 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$ (562.6) Ber. C 64.04 H 7.52 Gef. C 64.10 H 7.39

Spezif. Drehung: 10.34 mg in 1.177 ccm Äthanol- CHCl_3 (4:1), $[\alpha]_D^{25} = 19.2 \pm 1.8$. – Papierchromatographie an Formamid CHCl_3 oder Formamid, CHCl_3 -Benzol – 1:1.

Methylester-acetat: Acetylierung mit Pyridin-*Acetanhydrid*. Kristalle aus Aceton-Hexan. Schmp. 145–151°.

Spaltung von Uscharidin mit Kupfer(II)-acetat: „Boraxsäuremethylester“: 1.1 g Uscharidin- CHCl_3 (I) wurden in 110 ccm Methanol und 11 ccm Wasser gelöst und zusammen mit 2.2 g Kupfer(II)-acetat auf dem Wasserbad 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 50 ccm Wasser wurde das Methanol i. Vak. abdestilliert und die Lösung 2 mal mit je 100 ccm CH_2Cl_2 ausgeschüttelt. Der Extrakt wurde nacheinander mit je 80 ccm 2*n* Schwefelsäure, Wasser, 2*n* Soda-Lösung und dann solange mit Wasser gewaschen, bis er neutral blieb. Dann wurde getrocknet, eingedampft, in wenig Methanol gelöst und durch Zugabe der doppelten Menge Äther zur Kristallisation gebracht. Dünne Blättchen (862 mg, 90 % d.Th.), Schmp. 200°. Zweimal aus Methanol Äther, Schmp. 212°. Die Substanz wurde zunächst für ein Oxydationsprodukt des Uscharidins gehalten; erst das IR-Spektrum zeigte ihre Identität mit „Boraxsäuremethylester“. Bei 100°/0.01 Torr konstant getrocknet.

$\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_6$ (562.6)	Ber. C 64.04	H 7.52	OCH_3 5.51
	Gef. 63.94	64.17	7.36 7.52
			5.72
	63.90*		7.32*

Die mit * bezeichnete Analyse stammt von einer Probe, die zur evtl. Entwässerung vorher mit Xylol gekocht worden war.

Spezif. Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -20.8 \pm 1.2^\circ$ (in Äthanol- CHCl_3 = 4:1).

Oxim des „Boraxsäuremethylesters“: 80 mg des Esters wurden mit 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 200 mg Natriumacetat in 10 ccm Methanol 6 Stdn. unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von 5 ccm Wasser wurde i. Vak. das Methanol abdestilliert. Das sich abscheidende rohe Oxim, dünne fast quadratische Blättchen (60 mg), wurde abgesaugt. Vor und nach Umkristallisation aus Dioxan: Schmp. 242°.

$\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{NO}_{10}$ (577.6) Ber. N 2.58 Gef. N 2.92

Der hohe Stickstoffwert veranlaßte eine papierchromatographische Nachprüfung an Formamid Benzol- CHCl_3 . Die Substanz war frei von Ausgangsmaterial, enthielt aber einen langsamer laufenden Anteil, wahrscheinlich das Dioxim.

„Tetrahydroboraxsäure“. 100 mg VI wurden in 5 ccm 80-proz. Dioxan gelöst und innerhalb 30 Min. mit einer Lösung von 34 mg NaBH_4 in 3,4 ccm 80-proz. Dioxan versetzt. Nach 12 Stdn. wurde mit 2*n* Schwefelsäure angesäuert (p_{H} ca. 3) und das Dioxan i. Vak. abdestilliert, 5 ccm Wasser zugesetzt und wieder auf 3 ccm eingeeengt. Die abgeschiedenen Kristalle (92 mg) wurden aus Äthanol umkristallisiert. Feine Nadeln (60 mg), Schmp. 184–187°. Bei 80°/0,05 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$\text{C}_{20}\text{H}_{44}\text{O}_{10} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (561,6) Ber. C 62,00 H 8,08 Gef. C 61,92 62,05 H 7,98 8,05

Spezif. Drehung: 5,85 mg in 1,183 ccm Pyridin, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -52,3 \pm 1,9^\circ$.

„Hochschmelzende Boraxsäure“ erhält man durch Einwirkung von Mineralsäure auf VI bereits bei Raumtemperatur. Sie entsteht daher stets nebenher – besonders, wenn die rohe „Boraxsäure“ vor dem Trocknen nicht ganz mineralsäurefrei gewaschen war oder beim Ansäuern die Temperatur zu sehr anstieg. Sie ist schlecht definiert, Zers.-P. 220–230. In den meisten Lösungsmitteln ist sie schwer löslich und daher nicht umkristallisierbar. Sie löst sich auch nicht mehr in der Kälte in NaHCO_3 -Lösung und reagiert nicht mit Diazomethan. Sie hat alle Eigenschaften eines Lactons. Papierchromatographisch ist sie aber nicht von VI zu unterscheiden und die Hydrolyse in saurehaltigem, wäßrigem Methanol verläuft gleichartig. Aus Äthanol- CH_2Cl_2 (1:1) umgelöst, amorph. Die Analyse (bei 100° 0,01 Torr 6 Stdn. getrocknet) hat daher nur orientierenden Wert. Gef. C 62,46 H 7,15. Spezif. Drehung: 10,75 mg in 1,183 ccm Pyridin, $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -46,2 \pm 1,1^\circ$.

Reduktion der „Hochschmelzenden Boraxsäure“. Ausführung wie bei VI. Aus 100 mg wurden 65 mg „Tetrahydroboraxsäure“, Schmp. 184–186°, erhalten. Bei 80° 0,05 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$\text{C}_{20}\text{H}_{44}\text{O}_{10} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (561,6) Ber. C 62,00 H 8,08 Gef. C 61,60 61,76 H 8,27 8,39

Die Reduktionsprodukte der beiden „Boraxsäuren“ sind nach Mischschmelzpunkt und Papierchromatogramm identisch und werden in etwa der gleichen Ausbeute erhalten.

Pyrolyse der „Boraxsäure“ (VI). a) Isolierung des flüchtigen Ketols VIII: 200 mg VI wurden in ein U-Rohr eingefüllt, das in einem Ölbad erhitzt und mit reinem N_2 durchströmt werden konnte. Das abgehende Gas ging durch ein zweites, kleineres U-Rohr, das mit Aceton-Kohlensäureeis auf –80° gekühlt wurde. In einem sehr langsamen N_2 -Strom (1 Blase in 2 Sek.) wurde das Reaktionsgefäß langsam auf 250° gebracht. Das abströmende N_2 enthielt CO_2 . Das Kondensat im zweiten U-Rohr wurde mit 2mal 5 ccm Wasser herausgespült und sogleich mit einem großen Überschuß einer 0,25-proz. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 1*n* Schwefelsäure versetzt und 20 Min. im Wasserbad erwärmt; über Nacht gelbe Flocken (24 mg). Papierchromatographie (Formamid Disoamyläther) zeigte neben einem gelben Hauptprodukt in kleiner Menge noch ein rotes, langsamer laufendes Derivat. Die Trennung gelang aus Äther an 2 g Aluminiumoxyd, Akt. III. Gelbe Kristalle von XI aus Methanol, 12 mg, Schmp. 129–134°. Bei 50°/16 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_8$ (280,2) Ber. C 47,15 H 4,32 N 20,01 Gef. C 46,70 H 4,46 N 21,00

b) Isolierung des Genins: 100 mg „Boraxsäure“ (VI) wurden mit 0,5 ccm Nitrobenzol 2 Min. auf 180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde CHCl_3 zugesetzt. Beim Stehen schieden sich Kristalle ab, aus Äthanol Schmp. 237–240°. Papierchromatographisch (Formamid/

CH_2Cl_2) wurden sie als *Calotropagenin* identifiziert, dem eine Spur *Calotropagenin-19-säure* beigemischt war. Andere Butenolide wurden nicht gefunden. Die Pyrolyse der „hochschmelzenden Boraxsäure“ erfolgt erst bei höherer Temperatur unter entsprechend stärkerer Zersetzung.

„*Isoboraxsäure*“ (VII). 0.50 g reines *Usharidin*· HCl wurden mit 5 ccm 1*n* Natronlauge unter N_2 2 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach etwa 10 Min. war die Substanz in Lösung gegangen. Nach Abkühlen der gelbbraunen Lösung wurde angesäuert, worauf sich eine zähe Masse ausschied, später noch etwas feste Substanz, Schmp. 162° . Die halb feste Masse wurde in wenig verd. Lauge gelöst und nach Verdünnen mit 30 ccm Wasser bei 30° vorsichtig angesäuert. Die beim Stehen ausgeschiedene, kristalline Substanz, Schmp. 160° , war nach dem Mischschmelzpunkt mit der anderen identisch. Keine KEDDE-Reaktion. Pyrolyse, wie bei der „*Boraxsäure*“ unter a) beschrieben, gab auch das gelbe *Dinitropyrazolin XI* des Ketols und die gleichen Nebenprodukte (Identifizierung durch Papierchromatographie im System Formamid/Diisooamyläther).

Hydrolyse von „Boraxsäure“ (VI): 600 mg VI wurden in 30 ccm Methanol und 60 ccm Wasser gelöst und mit 15 ccm *n*₂₀ Salzsäure angesäuert. Der Ansatz wurde 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. In einem gesonderten Versuch wurde dabei die Bildung von CO_2 nachgewiesen. Nach dem Erkalten wurde mit 15 ccm *n*₂₀ Natronlauge neutralisiert und dreimal mit je 225 ccm CHCl_3 -Methanol (10:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit je 5 ccm Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet; sie waren dann frei von Keton (Prüfung mit Triphenyltetrazoliumchlorid). Sie wurden eingedampft und lieferten aus Aceton-Methanol 206 mg krist. *Calotropagenin*. Der Rückstand der Mutterlauge (256 mg) wurde mit Natriumboranat reduziert, um den Rest des Genins als stabilere 19-Dihydro-Verbindung zu erhalten (152 mg). Die Gesamtausbeute an den beiden Geninen entsprach 81 % d.Th.

Die wäßrig-methanolische Lösung wurde bei Raumtemperatur im Wasserstrahlvakuum von Methanol befreit und anschließend vorsichtig destilliert. Mit den letzten 30 ccm Wasser ging in zunehmendem Maße auch das Keton mit über. Der geringe, ölige Rückstand wurde in Äther aufgenommen und in einer kleinen Apparatur destilliert. Bei einer Badtemperatur von 120° ging bei 12 Torr ein farbloses Öl über, das papierchromatographisch (Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:5) einheitlich war; R_f -Wert 0.76. Nach der Analyse war die Substanz noch wasserhaltig; die Werte lagen zwischen denen für das ungesättigte Keton VIII und sein Wasseranlagerungsprodukt.

$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ (100.1) Ber. C 60.00 H 8.52

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3$ (118.1) Ber. C 50.77 H 8.04 Gef. C 53.63 H 8.26

Derivate des Ketols VIII mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin: a) Die nach dem Ausschütteln der Geneine verbleibende, wäßrige Lösung wurde mit einem Überschuß von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 1*n* Schwefelsäure einige Zeit auf dem Wasserbad erwärmt. Über Nacht schied sich das gelbe, flockige *Pyrazolin XI* ab. Zur Reinigung¹⁴⁾ wurde es in CH_2Cl_2 aufgenommen und an Aluminiumoxyd (neutral, Akt. I) chromatographiert, wobei Verunreinigungen adsorbiert blieben. Bei einer zweiten Chromatographie aus Äther an Aluminiumoxyd (neutral, Akt. III) konnte eine kleine Menge des nitrierten *Osazons X* abgetrennt werden. Das Papierchromatogramm zeigte nun noch 3 Verunreinigungen in sehr geringer Menge, von denen die beiden schneller laufenden durch zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol entfernt wurden. Eine dritte Reinigung an Aluminiumoxyd (neutral, Akt. IV) aus Äther ergab papier-

chromatographisch ganz einheitliches *Pyrazolinderivat XI*, Schmp. 132–134°. Bei 60–0.1 Torr getrocknet.

$C_{11}H_{12}N_4O_5$ (280.2) Ber. C 47.15 H 4.32 N 20.01 Gef. C 47.29 H 4.32 N 20.28

Die Substanz ist mit der bei der Pyrolyse erhaltenen papierchromatographisch sowie im Schmp. und Mischschmp. identisch.

b) Läßt man die wäßrige Lösung aus der Hydrolyse der „Boraxsäure“ nach Abtrennen der Genine einige Tage stehen, so erhält man mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin praktisch ausschließlich das *rote Osazon X*. Zur Reinigung wird aus CH_2Cl_2 an neutralem Aluminiumoxyd, Akt. IV, chromatographiert. Aus einer Hydrolyse von 200 mg „Boraxsäure“ wurden 80 mg (46%, d. Th.) X, rote Nadeln aus Aceton, Schmp. 239°, erhalten. Bei 20–0.05 Torr 2 Stdn. getrocknet.

$C_{17}H_{16}N_8O_9$ (476.3) Ber. C 42.86 H 3.39 N 23.53 Gef. C 43.18 H 3.54 N 23.32

Perjodsäureabbau des Ketols VIII: Die wäßrige Lösung aus der Hydrolyse von 200 mg „Boraxsäure“, die theoretisch 36 mg VIII enthält, wurde mit 200 mg $HJO_4 \cdot 2H_2O$ über Nacht stehen gelassen. Die übrige Perjodsäure wurde dann mit SO_2 reduziert. Nach Zugabe von 50 ccm einer 0.25-proz. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 1*n* H_2SO_4 wurde einige Zeit auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich die ersten gelben Flocken zeigten. Nach Stehen über Nacht wurde die gelbe Fällung abgetrennt. Das Papierchromatogramm (Formamid Di-isoamyläther) zeigte, daß praktisch ausschließlich *Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon* entstanden war. Zur völligen Reinigung wurde in wenig CH_2Cl_2 gelöst auf eine Säule aus 1 g Aluminiumoxyd (neutral, Akt. III) aufgebracht und mit Äther eluiert. Nach einer kleinen Menge des gelben Pyrazolinderivats XI wurden 40 mg Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon isoliert, Schmp. und Mischschmp. 155°.

Zur Isolierung der Crotonsäure wurde ein gleicher Ansatz nach der Reduktion mit SO_2 neutralisiert und der größte Teil des Wassers i. Vak. abdestilliert. Die Restlösung, etwa 15 ccm, wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert und im Flüssigkeitsextraktor 12 Stdn. mit reinem Äther ausgezogen. Der halb feste Rückstand der Ätherlösung (24 mg) wurde sublimiert und papierchromatographisch mit *Crotonsäure* und verschiedenen anderen, niederen Carbonsäuren verglichen²⁰⁾. Die Substanz war einheitlich und hatte den R_f -Wert der Crotonsäure, 0.55.

Perjodsäureabbau des hydrierten Ketols VIII: Die wäßrige Lösung aus der Hydrolyse von 200 mg „Boraxsäure“, aus der das Calotropagenin mit CH_2Cl_2 entfernt worden war, wurde nach Abdestillieren des Methanols i. Vak. sorgfältig neutralisiert. Dann wurden 30 mg $NaBH_4$ in wenig Wasser zugegeben, am nächsten Tag angesäuert (H_2 -Entwicklung) und 200 mg $HJO_4 \cdot 2H_2O$ in fester Form zugesetzt. Nach 14 Stdn. wurde mit SO_2 reduziert, mit einer 0.25-proz. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in 1*n* Schwefelsäure versetzt und auf dem Wasserbad kurz erwärmt. Die rasch entstehende, orangefarbene Fällung wurde am nächsten Tag abgesaugt und aus CH_2Cl_2 an neutralem Aluminiumoxyd, Akt. II, getrennt. In der Hauptsache wurden zwei Dinitrophenylhydrazone erhalten. Das gelbe hatte ohne Umkristallisieren den Schmp. 154° und stimmte mit dem Derivat des *Formaldehyds* im Mischschmp. und R_f -Wert überein. Das zweite, tief rote Dinitrophenylhydrazon war nach Schmp. 189° und R_f -Wert identisch mit dem Derivat des *Crotonaldehyds*; der Mischschmelzpunkt mit diesem gab keine Depression.

Die Mikroanalysen sind zum größeren Teil von Frl. H. POHLERT am hiesigen Institut durchgeführt worden; einige wurden bei A. BERNHARDT in Mülheim/Ruhr gemacht. Beiden Stellen sei herzlich gedankt.

²⁰⁾ H. KALBE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 19 (1954), und zwar S. 39.

SONDERDRUCK AUS
JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

Über afrikanische Pfeilgifte, XII

DIE AUTOXYDATION DER CALOTROPISGIFTE

VON GERHARD HESSE, WERNER GEFIGER und GUSTAV LETTENBAUER

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen

Liebigs Ann. Chem. **625**, 167—173 (1959)

Über afrikanische Pfeilgifte, XII¹⁾

DIE AUTOXYDATION DER CALOTROPISGIFTE

VON GERHARD HESSE, WERNER GEIGER²⁾ und GUSTAV LETTENBAUER

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen

Eingegangen am 6. März 1959

Calotropin und Calotropagenin oxydieren sich an der Luft unter Lichteinwirkung. Dabei geht die C-19-Aldehydgruppe in eine Carboxylgruppe über. Aus den UV-Spektren und dem Vergleich von Drehungswerten wird geschlossen, daß die Ringe A und B im Calotropagenin *trans*-ständig sind.

Es war aufgefallen, daß verschiedene reine Calotropis-Stoffe nach längerem Lagern eine oder mehrere neue Verbindungen enthalten³⁾. In Lösung trat diese Veränderung oft schon in wenigen Stunden ein, in anderen Fällen blieb sie aber aus. Es ließ sich zeigen, daß Luft und Licht dazu notwendig sind. Das Lösungsmittel ist von untergeordneter Bedeutung, doch haben sich wasserfreie Medien präparativ am besten be-

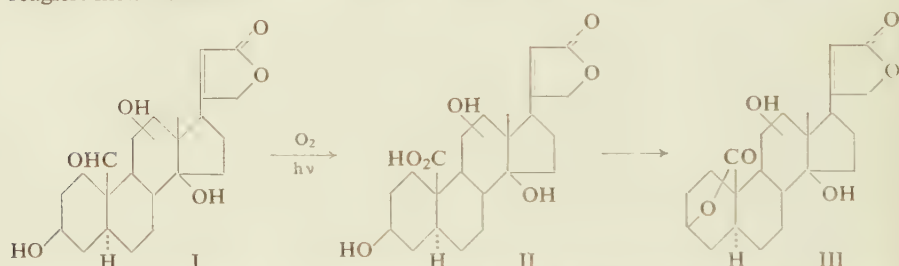
¹⁾ XI. Mitteilung: G. HESSE und W. GEIGER, Liebigs Ann. Chem. **625**, 161 (1959).

²⁾ W. GEIGER, Dissertation Univ. Erlangen 1958.

³⁾ vgl. auch S. RAJAGOPALAN, Ch. TAMM und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta **38**, 1809 (1955).

währt. Unter Kohlendioxyd blieb auch kräftige Belichtung wirkungslos. Entsprechende Beobachtungen hatte schon A. KATZ⁴⁾ am Bovogenin A gemacht und bewiesen, daß dort die Aldehydgruppe (C-19) zur Carboxylgruppe oxydiert wird. Das Gleiche ist bei unseren Stoffen der Fall.

Calotropagenin⁵⁾ (I) läßt sich in dem azeotropen Gemisch aus Chloroform und Methanol in 15 Stunden vollständig oxydieren, wenn an einem hellen Ort Luft hindurchgesaugt wird. Die entstehende neue Verbindung (II) hat ein Sauerstoffatom mehr und ist eine Säure, die mit Diazomethan verestert werden kann; Calotropagenin selbst reagiert nicht damit.



Calotropagenin hat im UV-Spektrum neben dem Butenolid-Maximum bei $217\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.20$) noch ein Nebenmaximum ($307\text{--}310\text{m}\mu$; $\log \epsilon = 1.55$). Seine Lage weist auf eine Carbonylgruppe hin, speziell auf eine Aldehydgruppe, denn bei Herzgiftketonen pflegt es kürzerwellig ($290\text{--}295\text{m}\mu$) und die Extinktion höher ($\log \epsilon = 1.7\text{--}1.8$) zu sein. Durch die gleichzeitige Aufnahme des Hauptmaximums lassen sich Fehler bei der Einwaage, etwa durch Kristall-Lösungsmittel bedingt, ausschließen. Man kann deshalb auch die geringfügigen Unterschiede beachten, die erfahrungsgemäß zwischen 19-Oxo-butenoliden mit *cis*- oder *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B bestehen. Bei *cis*-Verbindungen ist das Nebenmaximum kürzerwellig ($303\text{--}305\text{m}\mu$) und schwächer ($\log \epsilon = 1.45$). Von den genau bekannten Stoffen mit C-19-Aldehydgruppe hat nur Corotoxigenin⁶⁾ ein praktisch gleiches UV-Spektrum. Es gehört der allo-Reihe an, die Ringe A und B sind also *trans*-verknüpft. In diesem Zusammenhang ist wichtig, daß S. RAJAGOPALAN, CH. TAMM und T. REICHSTEIN³⁾ aus Samen von *Calotropis procera* nach Fermentation Corotoxigenin isolieren konnten. Aus anderen Untersuchungen des Basler Arbeitskreises⁷⁾ folgt, daß bisher immer nur eine der beiden Verknüpfungsarten A/B-*cis* oder A/B-*trans* in einer Pflanzenart nachgewiesen

4) A. KATZ, Pharm. Acta Helvetiae **29**, 77 (1954) [C. A. **48**, 10995 (1954)].

5) C. H. HASSALL und K. REYLF, Chem. and Ind. **1956**, 487. Wir benutzen vorläufig diese Formel, halten aber eine Vertauschung der Ringgrößen von C und D für möglich.

6) A. STOLL, A. PIRITTA und J. RENZ, Helv. chim. Acta **32**, 293 (1949); O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, ebenda **35**, 730 (1952).

7) H. R. URSCHLER und CH. TAMM, Helv. chim. Acta **38**, 865 (1955).

werden konnte. Dies gilt auch dann, wenn verschiedene Pflanzenteile verglichen werden. Die Vermutung spricht also dafür, daß Calotropagenin der allo-Reihe angehört.

Bei der Luftoxydation des Calotropagenins verschwindet das Nebenmaximum, das wir der Aldehydgruppe zuordnen. Das Oxydationsprodukt ist also die Calotropagenin-säure-(19) (II). Nach längerem Stehenlassen der Lösung in wasserfreien Lösungsmitteln kann man im Papierchromatogramm einen weiteren, bisher unbekannten Stoff nachweisen, der weniger polar ist. Es ist sehr wahrscheinlich, daß er durch Lactonbildung zwischen der Säuregruppe und dem an C-3 vermuteten Hydroxyl entsteht, denn er kann mit NaHCO_3 -Lösung nicht mehr ausgeschüttelt werden. Derartige 19→3-Lactone (III) sind bekannt.

Wegen der Kostbarkeit des Calotropagenins wurden weitere Oxydationsversuche am Calotropin durchgeführt. Sie verliefen ganz analog. Auch hier verschwindet das Nebenmaximum ($310\text{m}\mu$, $\log \epsilon = 1.49$) der Aldehydgruppe, und man findet eine zusätzliche Säurefunktion. Hier wurde sie dadurch nachgewiesen, daß die gebildete Calotropin-säure-(19) bei der indirekten Titration 2 Äquivalente Lauge verbraucht, Calotropin hingegen nur eines. Läßt man die Lösung in Chloroform-Methanol stehen, so treten zwei zusätzliche Stoffe auf, die wir als Lactone der neugebildeten sauren Gruppe ansehen. Hierfür kommen nach anderen Erfahrungen hauptsächlich die Hydroxylgruppen an C-3' und C-4' im „Zucker“ in Betracht.

Calotropin-säure-(19) und die entsprechende Säure II des Calotropagenins wurden auch in einem Milchsaft gefunden, der lange Zeit in verzinkten Eisenbehältern gestanden hatte und nach Farbe und Geruch Zeichen der Zersetzung trug. In frischer, unzersetzter Calotropis-Milch waren beide noch nicht nachweisbar.

Anfangs glaubten wir, daß aus Calotropin bei der Autoxydation im Licht Calotoxin gebildet wird⁸⁾. Die Löslichkeiten, der R_F -Wert und die Elementaranalyse sprachen dafür. Der Angriff wäre dann im „Zucker“ erfolgt, denn Calotoxin gibt bei der Pyrolyse „Oxymethylreduktinsäure“, die gerade ein Sauerstoffatom mehr hat als die Spaltstücke, die man aus Calotropin erhält. Eine Oxydation an dieser Stelle war bei den nahen Beziehungen des „Zuckers“ im Calotropin zu den Reduktionen beinahe zu erwarten. Erst als eine ausreichende Menge des Oxydationsprodukts zur Verfügung stand, konnte seine Pyrolyse präparativ durchgeführt werden. Die flüchtigen Spaltstücke waren, genau wie beim Calotropin, Methylreduktinsäure und „Herzgift-Methylreduktinsäure“. Schmelzpunkte, Reaktionen, UV-Spektren und die spezif. Drehung der letzteren waren in beiden Fällen identisch. Bei Beachtung der Lösungsmittel-Verbindungen von Calotropin-säure-(19) ergaben sich auch sichere Unterschiede im Schmelzpunkt. Unsere Angabe, daß das Produkt der Autoxydation mit Calotoxin identisch sei, ist also zu streichen.

⁸⁾ W. GEIGER, G. HESSE, G. LEITENBAUER und H. SCHILDKNECHT, *Naturwissenschaften* **44**, 328 (1957).

Weitere Untersuchungen zur Zuordnung des Calotropagenins in die Reihe der allo-Genine mit einer C-19-Aldehydgruppe wurden am 19-Dihydro-calotropagenin ausgeführt. Es ist für eine derartige Aldehydgruppe bezeichnend⁹⁾, daß die katalytische Hydrierung mit Platin in Eisessig nicht angreift. Dies wurde am Calotropagenindiacetat geprüft und bestätigt gefunden: Es wird nur die olefinische Doppelbindung im Lactonring hydriert. Das Diacetyl-20.22-dihydro-calotropagenin zeigt im UV steigende Endabsorption gegen 210m μ und das Aldehydmaximum bei 310m μ (log ε = 1.46). Der gesamte Verlauf der Kurve entspricht den erwarteten Verhältnissen.

Natriumborhydrid greift dagegen nur an der Aldehydgruppe an und gibt eine acetylierbare CH₂OH-Gruppe. Die molaren Drehungen [M]_D¹⁰⁾ und deren Änderungen (Δ) beim Übergang einiger 19-Oxo-steroiden in die 19-Hydroxy-steroiden sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Molare Drehungen von 19-Oxo- und 19-Hydroxy-steroiden

Stoffpaar	Reihe	[α] _D	Lösungsmittel	[M] _D	Δ
Corotoxinogenin	A/B- <i>trans</i>	+42°	CH ₃ OH	163°	} -73°
Coroglaucigenin		+23°	CH ₃ OH	90°	
Bovogenin A	A/B- <i>trans</i>	+0°	CH ₃ OH	0°	} -62°
Bovogenol A		-15.4°	CH ₃ OH	-62°	
Calotropagenin		+42°	C ₂ H ₅ OH	174°	} 84°
19-Dihydro-calotropagenin		+22°	C ₂ H ₅ OH	90°	
Strophanthidin	A/B- <i>cis</i>	+44°	CH ₃ OH	167°	} -7°
Strophanthidol		+37°	CH ₃ OH	160°	
Antiarigenin	A/B- <i>cis</i>	+43°	CH ₃ OH	181°	} -23°
19-Dihydro-antiarigenin		+37°	CH ₃ OH	158°	
Corotoxinogeninacetat	A/B- <i>trans</i>	+31.8°	CH ₃ OH	137°	} -95°
Coroglaucigeninacetat		+42°	CH ₃ OH	42°	
Calotropageninacetat		+8.5°	C ₂ H ₅ OH/CH ₃ Cl	41.5°	} -125°
19-Dihydro-calotropageninacetat		-16.0°	C ₂ H ₅ OH/CH ₃ Cl	-83.7°	
Strophanthidinacetat	A/B- <i>cis</i>	+55.8°	CH ₃ Cl	249°	} -24°
Strophanthidolacetat		+46.0°	CH ₃ Cl	225°	

Der Einfluß der Reduktion auf die Drehung ist in der *trans*-Reihe wesentlich größer als in der *cis*-Reihe. Calotropagenin schließt sich der *trans*-Reihe an¹¹⁾. Entsprechendes

9) O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta **35**, 730 (1952).

10) CH. TAMM, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] **13**, 137 (1956); H. LETTRÉ, H. H. INHOFFEN und R. TSCHESCHE, Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe, Bd. 1, F. Enke, Stuttgart 1954.

11) Anmerkung bei der Korrektur (4. 6. 1959): Gleichzeitig mit uns sind auch C. H. HASSALL und K. RYU, J. chem. Soc. [London] **1959**, 85, mit derselben Methode für Calotropagenin zu einem entsprechenden Schluß gekommen. Ferner haben R. TSCHESCHE, G. SNATZKE und G. GRIMMER, Naturwissenschaften **46**, 263 (1959), aus der Geschwindigkeit der Chromsäureoxydation auf *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B und äquatoriale (β -) Stellung des Hydroxyls an C-3 geschlossen.

findet man auch für die Acetate der gebildeten Alkohole. Leider sind die der Literatur entnommenen Drehwerte nicht immer im gleichen Lösungsmittel gemessen worden.

Ucharidin und Calactin sind im Licht ebenfalls autoxydabel und bilden zunächst in der Hauptsache ein Oxydationsprodukt, das beim Stehenlassen in wasserfreier Lösung in weitere Stoffe übergeht. Diese Nachweise wurden bisher nur papierchromatographisch geführt.

Alle C-19-Säuren der Calotropis-Reihe unterschieden sich charakteristisch von ihren Stammsubstanzen in der *Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure*. Die Lösung ist tief dunkelrot, die der zugehörigen Aldehyde nur orange.

Wir danken der Firma C. H. BOEHRINGER in Ingelheim für die Stiftung des Ausgangsmaterials und der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT (ROCHE-Fonds) sowie dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE herzlich für die Unterstützung unserer Arbeiten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*

Calotropagenin-säure-(19) (II). 42 mg Calotropagenin (I) wurden in 20 ccm Chloroform/Methanol (88:12 Gew.-Teile) gelöst und in einer Gaswaschflasche mit Glasfritte belüftet. Die Luft wurde zunächst mit konz. H_2SO_4 getrocknet und dann durch $CHCl_3/CH_3OH$ (88:12) geleitet, um ein Eintrocknen der Reaktionslösung zu verhindern. Das Reaktionsgefäß wurde mit einer Mischlichtlampe belichtet. Der Fortgang der Reaktion konnte papierchromatographisch mit Butanol Toluol Wasser (1:2:2) verfolgt werden; nach 15 Stdn. war sie beendet. Der Rückstand der Lösung lieferte, zweimal aus Essigester kristallisiert, 28 mg (64% d. Th.) der Carbonsäure II, Schmp. 258–262°. Sie wurde bei 80°/0.01 Torr 3 Stdn. getrocknet.

$C_{23}H_{32}O_7$ (420.5) Ber. C 65.69 H 7.67 Gef. C 66.68 H 7.46

Ein krist. Präparat von Calotropagenin (I), das 20 Jahre gestanden hatte, enthielt nach der Papierchromatographie mit Formamid/Tetrahydrofuran/ $CHCl_3$ und mit Octanol/Wasser erhebliche Mengen II. Auch aus einem alten Milchsafte wurde II isoliert. Zers.-P. 256–258 (aus Essigester). Gef. C 65.71 H 7.75.

Calotropin-säure-(19). 310 mg Calotropin in 50 ccm $CHCl_3/CH_3OH$ (88:12) wurden wie oben behandelt. Der Fortgang der Oxydation wurde papierchromatographisch (Formamid/Methylenchlorid) verfolgt. Nach 48 Stdn. wurde das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen und der Rückstand zweimal aus $CHCl_3/CH_3OH$ umkristallisiert: 235 mg (74% d. Th.) $CHCl_3$ -Verbindung der Calotropin-säure-(19), Schmp. 208–210°; $[x]_D^{25} + 63.6$ 1.4 (Methanol). Getrocknet wurde 3 Stdn. bei 80°/0.01 Torr über Kieselgel.

$C_{29}H_{40}O_{10} \cdot CHCl_3$ (667.5) Ber. C 54.00 H 6.14 Gef. C 53.98 H 6.42

In den wasserlöslichsten Fraktionen aus einem Calotropis-Milchsafte wurde Calotropin-säure-(19) ebenfalls gefunden (K. Mix). Aus Methanol:

$C_{29}H_{40}O_{10}$ (548.6) Ber. C 63.49 H 7.35 Gef. C 63.50 H 7.59

Indirekte Titration: Etwa 20 mg der $CHCl_3$ -Verbindungen von Calotropin und Calotropin-säure-(19) wurden in 4.00 ccm $n/20$ NaOH in Methanol gelöst und bei Raumtemperatur 2 Tage

*) Vorbemerkungen vgl. VII. Mitt.: G. HESSE und G. LETTENBAUER, Liebigs Ann. Chem. 623, 142 (1959).

im Dunkeln stehen gelassen. Die nicht verbrauchte Lauge wurde dann mit n_{20} HCl gegen Phenolphthalein zurückeritriert.

Calotropin $C_{29}H_{40}O_9 \cdot CHCl_3$ (651.5) Gef. Äquiv.-Gew. 633.3 631.9
 Calotropin-säure-(19) $C_{29}H_{40}O_{10} \cdot CHCl_3$ (667.5) Gef. Äquiv.-Gew. 329.6

Calotropagenin (I) aus „Boraxsäure“: 600 mg „Boraxsäure“¹²⁾ aus Uscharidin wurden in einem Gemisch aus 30 ccm Methanol und 60 ccm Wasser gelöst und mit 15 ccm n_{20} HCl 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit 15 ccm n_{20} NaOH neutralisiert und das Methanol i. Vak. abdestilliert. Die waßrige Lösung wurde dann dreimal mit je 225 ccm $CHCl_3$ CH_3OH (10:1) ausgeschüttelt. Der Eindampfdruckstand der organischen Phase (476 mg) gab aus Aceton Methanol krist. *Calotropagenin* (206 mg, 56% d. Th.). Schmp. 242–248°. Durch Chromatographie an Silicagel ließ sich aus der Mutterlauge eine weitere Menge erhalten. Aus Äthanol und Essigester umkristallisiert, Schmp. 250–252°. Getrocknet wurde 3 Stdn. bei 119°/0.05 Torr.

$C_{23}H_{32}O_6$ (404.5) Ber. C 68.29 H 7.97 Äquiv.-Gew. 404.5
 Gef. 68.61 7.92 408.1 (indirekte Titration)

Papierchromatographisch ist die Substanz in Octanol Wasser und Wasser Butanol-Toluol (1:2) mit früheren Präparaten aus der Pyrolyse des Calotropins und aus dem Milchsaft identisch. $[\alpha]_D^{25} = +42.4 \pm 2^\circ$ (7.32 mg in 1.177 ccm Äthanol).

Calotropagenin-diacetat. 50 mg I wurden in 2 ccm *Pyridin* gelöst und 1 ccm reines *Acetanhydrid* zugegeben. Die Mischung stand einen Tag im Dunkeln, dann wurde i. Vak. abdestilliert und der Rückstand in 50 ccm CH_2Cl_2 aufgenommen. Es wurde der Reihe nach ausgeschüttelt mit 5 ccm 1 *n* H_2SO_4 , 5 ccm Wasser, 5 ccm 1 *n* Na_2CO_3 -Lösung und zweimal mit 5 ccm Wasser. Die mit Na_2SO_4 getrocknete Lösung hinterließ 63 mg einer schaumigen Masse, die aus Methanol Äther 41 mg Kristalle gab. Schmp. 208° (z. T. erst bei 240°). Aus Aceton, *n*-Hexan Schmp. 209–212° (31 mg), aus der Mutterlauge 228–232° (9 mg). Papierchromatographisch (Formamid/Benzol-Cyclohexan 1:1) hatten beide Kristallise den gleichen R_F -Wert. Bei späteren Versuchen wurde festgestellt, daß sie sich durch Animpfen übersättigter Lösungen wechselseitig ineinander überführen lassen; es handelt sich offenbar um Kristallmodifikationen. Die *hochschmelzende Form* ließ sich aus Aceton *n*-Hexan auf den Schmp. 245–250° bringen. Sie wurde bei 20°/0.01 Torr 4 Stdn. getrocknet.

$C_{27}H_{36}O_8$ (488.6) Ber. C 66.37 H 7.43 Gef. C 66.07 H 7.49

Tiefschmelzende Form, Schmp. 207–209°, bei 80°/0.01 Torr 5 Stdn. getrocknet; Gef. C 66.22 H 7.64. $[\alpha]_D^{25} = +8.5 \pm 1^\circ$ (6.69 mg in 1.177 ccm Äthanol/Chloroform = 4:1).

Das Diacetat von I wird durch Luft und Licht ebenso schnell verändert wie I.

Katalytische Hydrierung von I-Diacetat. In einer Mikrohydrierapparatur wurden 40 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ in 12 ccm Eisessig reduziert. Dann wurden, ohne zu öffnen, 142 mg I-Diacetat zugegeben. Verbrauch 6.47 Nccm H_2 (ber. für 1 Mol H_2 6.52 ccm). Der Katalysator wurde durch ein mit Celite 545 gedichtetes Filter abgesaugt und mit 5 ccm Eisessig nachgewaschen. Der teilweise krist. Eisessig-Rückstand wurde in 20 ccm CH_2Cl_2 gelöst, die Lösung mit 5 ccm 2 *n* Na_2CO_3 -Lösung und zweimal mit 5 ccm Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und

¹²⁾ vgl. VII. Mitt., loc. cit.

i. Vak. eingedampft. Aus Aceton/n-Hexan feine Nadeln von 20.22-Dihydro-calotropagenin-diacetat, Schmp. 202–210°. Ausbeute 106 mg (74% d. Th.). Nochmals aus Aceton/Hexan; Schmp. 204–210° (bei 90°/0.05 Torr 5 Stdn. getrocknet).

$C_{27}H_{38}O_8$ (490.6) Ber. C 66.10 H 7.81 Gef. C 66.17 H 7.87

$[\alpha]_D^{20} = -3.2 \pm 1.2^\circ$ (6.82 mg in 1.177 ccm Äthanol/ $CHCl_3$ = 4:1).

19-Dihydro-calotropagenin. — 100 mg Calotropagenin (I) in 50 ccm 80-proz. Dioxan wurden innerhalb von $\frac{1}{2}$ Stde. mit einer Lösung von 40 mg Natriumborant in 3.5 ccm 80-proz. Dioxan versetzt. Nach 6 stdg. Stehenlassen bei 18° wurde mit 2 n H_2SO_4 eben kongosauer gemacht und nach Zugabe von 7 ccm Wasser das Dioxan i. Vak. abdestilliert. Dann wurde 4 mal mit je 50 ccm Chloroform ausgeschüttelt, gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Der Rückstand (90 mg) ergab aus Äthanol/Wasser Kristalle vom Schmp. 245–250°. Aus Isopropylalkohol/ CH_2Cl_2 2 mal umkristallisiert, dünne Blättchen, Schmp. 250–255° (Trübung bei 150°). Mit Octanol/Wasser und Wasser/Butanol-Toluol (2:1) papierchromatographisch einheitlich. Die aus Äthanol erhaltene, lösungsmittelfreie Verbindung wurde bei 100°/0.01 Torr 5 Stdn. getrocknet. Milchig trübe Blättchen, Schmp. 250–252°.

$C_{23}H_{34}O_6$ (406.5) Ber. C 67.95 H 8.43 Äquiv.-Gew. 406.5

Gef. 67.63 8.48

416.6 (indirekte Titration)

Hemihydrat: klare, durchsichtige Blättchen. Zur Analyse wurde bei 100°/0.1 Torr 2 Stdn. getrocknet.

$C_{23}H_{34}O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ (415.5) Ber. C 66.51 H 8.49 Gef. C 66.73 H 8.51

$[\alpha]_D^{20} = +22.0 \pm 3^\circ$ (7.65 mg in 1.177 ccm Äthanol).

19-Dihydro-calotropagenin-triacetat. — 520 mg Dihydrocalotropagenin $\cdot\frac{1}{2} H_2O$ wurden in 15 ccm Pyridin und 10 ccm Acetanhydrid gelöst. Nach 2 Tagen (20°) wurde i. Vak. verdampft, in 50 ccm CH_2Cl_2 gelöst und mit 5 ccm 2 n H_2SO_4 , 5 ccm Wasser, 5 ccm 2 n Na_2CO_3 -Lösung und 2 mal 5 ccm Wasser gewaschen. Der Rückstand der getrockneten Lösung wurde in Aceton gelöst, n-Hexan zugesetzt und langsam eingengt. Das ausgeschiedene 19-Dihydro-calotropagenin-triacetat (510 mg, 77% d. Th.) wurde zweimal aus Aceton/Hexan umkristallisiert. Feine Nadeln, Schmp. 244–246°. In Formamid/Benzol-Cyclohexan (2:1) einheitlich. Bei 80°/0.1 Torr 5 Stdn. getrocknet.

$C_{29}H_{40}O_9$ (532.6) Ber. C 65.39 H 7.57 Gef. C 65.27 H 7.08

$[\alpha]_D^{20} = -15.8 \pm 2.7^\circ$ (8.69 mg in 1.177 ccm Äthanol/ $CHCl_3$ = 3:1).

Lebenslauf

Am 16. November 1929 wurde ich als Sohn des Orthopädie- und Chirurgiemechanikers Gustav Lettenbauer und seiner Frau Anna, geborene Herrmann, in München geboren. In den Jahren 1936 bis 1939 besuchte ich die Volksschule in München. Nach einem Jahr Volksschule in Baiersdorf bei Erlangen trat ich 1940 in das Humanistische Gymnasium in Erlangen ein, das ich bis zum Abschluß der 8. Klasse im Jahre 1948 besuchte. Nach Übertritt in die Ohm-Oberrealschule Erlangen legte ich im Jahre 1949 an dieser Schule das Abitur ab.

Im Wintersemester 1949/50 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen zum Studium der Biologie. Im Sommersemester 1951 begann ich mit dem Chemiestudium und konnte am 14. Dezember 1953 die Diplom-Chemiker-Vorprüfung ablegen. Anfang November 1955 unterzog ich mich der mündlichen Diplom-Hauptprüfung. Nach Abschluß der Diplomarbeit als Mitarbeiter von Prof. Dr. G. Hesse erhielt ich am 5. Juli 1956 mein Diplomzeugnis ausgestellt.

